Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 1, Spring 2023, p. 29-38

The Effect of Gamma Irradiation of Corn Seeds on Performance and Fermentation Parameters of Corn Forage and Silage

Ali Reza Shabani Monazam[1], Mehdi Behgar [2], Mohammad Ali Norouzian [3*], Azam Borzoie[4]

Received: 14-11-2021
Revised: 13-07-2022
Accepted: 26-07-2022
Available Online: 26-07-2022

How to cite this article:
Shabani Monazam, A. R., Behgar, M., Norouzian, M. A., & Borzoie, A. (2023). The effect of gamma irradiation of corn seeds on performance and fermentation parameters of corn forage and silage. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 29-38.
DOI: 10.22067/ijasr.2022.73461.1050

Introduction: The use of radiation has become a way of life in most countries around the globe. The utilization of nuclear techniques in the area of agriculture, defense, and power generation has increased over the last few decades. Radiation technology is widely used to produce changes in product characteristics leading to the development of new products. Radiation-mediated morphological, structural and/or functional changes in a plant are governed by the intensity and duration of the gamma irradiation. Gamma irradiation was found to increase plant productivity. Gamma rays represent one of the important physical agents used to improve the characters and productivity of many plants (e.g. rice, maize, bean, cowpea, and potato). Gamma irradiation also has been found to be very useful for both sterilization and for the preservation of food and cereal grain in nutrition and agriculture. Gamma rays were also found to cause modulation in protein patterns by inducing the appearance and/or disappearance of some protein bands. It has been shown that large DNA strands were broken into small strands at low irradiation doses but small and large DNA strands were broken at higher irradiation doses. Also it has reported that germination of seeds can be influenced in both positive and negative directions by gamma radiation exposure as a result of mutation inductions depending on cellular abnormalities or stimulatory modifications triggered by radiation doses. In several studies, lethal and stimulatory effects of gamma irradiation on germination percentage, emergence, and survival of seedlings of different plant species have been reported. The present work has been intended to investigate the response of corn seeds exposed to gamma irradiation (25 Gys) in terms of the nutritional performance of its forage and silage compared with control non-exposed seeds.

Materials and Methods: Corn seeds were obtained from the Vegetable Crop Seed Production and Technology section, Ghezlagh Farm, College of Abouraihan, university of Tehran, Iran. Four kg corn seeds (single cross 704) were divided into 2 groups. The first group did not have any treatment to serve as a control, while the second group was irradiated with Gamma rays (25 Gray) using Gamma cell – cobalt- 60 instruction and with the rate of 0.55 Gr/ min at the Nuclear Agricultural Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran. Field experiments were conducted during the summer seasons at Ghezlal farm Research Station located at the southwest of Tehran province, Varamin, to study the effect of gamma irradiation (25 Gray) on the performance of corn forage and silage. After irradiation, control and irradiated seeds were cultivated in 2000 m^2. Agricultural practices such as: irrigation, weeding, fertilization, and pest control were carried out as recommended. Samples of corn plants were obtained at the late stage of growth and amounts of proline, soluble carbohydrate, and protein were determined. Performance chrematistics of experimental groups were also recorded. After harvesting, the corn forage was chopped and transferred to an experimental silo made of polyethylene pipe. DM, ash, CP, NDF, and

1- M.Sc. Student, Department of Livestock and Poultry Sciences, , Faculty of Agricultural Technology , University of Tehran, Tehran, Iran
2- Associate Professor, Agricultural Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran
3-Associate Professor, Department of Livestock and Poultry Sciences , Faculty of Agricultural Technology , University of Tehran, Tehran, Iran
4- Associate Professor, Agricultural Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran
*Corresponding Author's Email: M.A. Norouzian: manorouzian@ut.ac.ir

ADF of experimental silages were determined according to standards procedures. The pH of silage also was determined using pH meters. For the determination of gas production parameters, 200 mg of dry samples were incubated at gas production environment and the amount and rate of gas production were recorded at a different time of incubation (0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72 and 96 h). Using gas production parameters, the amount of OM digestibility, ME, NEL, and SCFA were also determined. Data were analyzed using the t-student test of SAS software (ver. 9.1). Duncan's multiple range test was used to detect statistical significance between treatments using a significance level of 0.05.

Results and discussion: Irradiation of corn seeds increased corn performance (wet and dry weight of seed and forage), amount of soluble carbohydrates and protein, and concentration of proline ($P<0.05$). The exposed treatment showed the highest increase in seed weight, seed number, and weight of 1000 seeds as compared to the control ($P < 0.05$). Amount of gas, and b and c fractions of gas production, the concentration of short-chain fatty acids (SCFAs), metabolizable (ME) and net energy for lactation (NEL), and organic matter digestibility (OMD) were higher for treated corn forage and silage compared to the control group ($P < 0.05$). Also, exposed corn silage had a lower level of pH and higher amount of dry matter (DM) and crude protein (CP) than control ($P < 0.05$).

Conclusion: The results of this study show that exposing irradiation of corn seeds to 25 gray gamma-ray improves fermentation parameters and nutrition values of corn forage and silage.

Keywords: Chemical composition, Forage corn, Gamma-ray, Gas production

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

جلد۱۵، شماره۱، بهار۱۴۰۲، ص ۳۸-۲۹

تأثیر پرتوتابی گامای بذر ذرت علوفه‌ای بر عملکرد و فراسنجه‌های تخمیری گیاه و سیلاژ آن

علیرضا شعبانی منظم[1]، مهدی بهگر[2]، محمدعلی نوروزیان[3*]، اعظم برزوئی[4]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۲۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۴/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۴

چکیده

یکی از روش‌های بهبود عملکرد گیاهان زراعی استفاده از فناوری هسته‌ای است. در این پژوهش، بذر ذرت علوفه‌ای سینگل کراس ۷۰۴ با دز بهینه ۲۵ گری با استفاده از دستگاه گاما سل کبالت-۶۰ با نرخ ۰/۵۵ گری در دقیقه پرتوتابی شد. سپس در زمینی به مساحت دو هزار مترمربع بذور پرتوتابی شده و پرتوتابی نشده کشت شدند. نمونه‌برداری از گیاه ذرت در انتهای دوره رشد انجام و مقدار پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و پروتئین محلول و همچنین صفات عملکردی ذرت اندازه گیری شد. پس از برداشت، علوفه ذرت توسط دستگاه چاپر، خرد و مقداری از علوفه هر دو تیمار در سیلوهای آزمایشی از جنس لوله پلی اتیلن سیلو شد. مقدار ماده خشک، خاکستر خام، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. همچنین pH سیلاژهای آزمایشی با استفاده از روش عصاره‌گیری و توسط pH متر تعیین شد. جهت برآورد فراسنجه‌های تولید گاز مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه آسیاب شده علوفه و سیلاژ گیاه ذرت به همراه مایع شکمبه در محیط تولید گاز انکوبه و میزان و نرخ گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت اندازه‌گیری شد. هم‌چنین با استفاده از فراسنجه‌های تولید گاز به‌دست آمده، میزان قابلیت هضم ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص شیردهی و میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر برآورد شد. مقدار وزن خشک، کربوهیدرات و پروتئین محلول گیاه ذرت پرتوتابی شده به‌ترتیب ۳۱۴/۸ گرم در هر بوته، ۶۱۶/۰ و ۱۴/۴۳ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر بیشتر از این مقادیر در شاهد (به‌ترتیب ۲۲۵/۲ گرم در هر بوته، ۴۴۹/۶ و ۱۲/۲۵ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر) بود (P <۰/۰۵). همچنین درصد ماده خشک و پروتئین خام نمونه‌های سیلاژ گروه تیمار (به ترتیب ۲۹/۴ و ۱۳/۳ درصد) بیشتر از تیمار پرتوتابی نشده (به‌ترتیب ۲۶/۱ و ۱۱/۲ درصد) بود (P <۰/۰۵). همچنین سیلاژ ذرت پرتوتابی شده pH کمتری (۳/۸ در برابر ۴/۱) نسبت به گروه شاهد داشت (P <۰/۰۵). میزان، قابلیت (ضریب b) و نرخ (ضریب c) تولید گاز، میزان تولید اسیدهای چرب فرار، قابلیت هضم ماده آلی و محتوای انرژی قابل متابولیسم و انرژی خالص نمونه‌های گیاه و سیلاژ ذرت حاصل از بذور پرتوتابی شده بیشتر از گروه شاهد بود (P <۰/۰۵). نتایج این آزمایش نشان داد، پرتوتابی بذر ذرت علوفه‌ای با پرتو گاما با دز ۲۵ گری باعث بهبود فراسنجه‌های تخمیر و ارزش غذایی سیلاژ ذرت حاصل از آن می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پرتو گاما، ترکیب شیمیایی، تولید گاز، ذرت علوفه‌ای

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دام و طیور، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۲- دانشیار پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، کرج، ایران.
۳- دانشیار، گروه علوم دام و طیور، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران.
۴- دانشیار پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، کرج، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: manorouzian@ut.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.73461.1050

مقدمه

انســـان از یک طرف به‌دلیل نیاز روزمره و از طرف دیگر، برای تأمین نیاز جمعیت در حال ر شد، واب ستگی زیادی به گیاهان دا شته و در همین راستا سعی کرده است تا به کمک روش‌های علمی، عملکرد کیفی و کمّی گیاهان را افزایش دهد تا بتواند نیازهای تغذیه‌ای جوامع را پاســـخ دهد. در بین گیاهان زراعی، گیاهان علوفه‌ای مانند ذرت علوفه‌ای نقش بســیار مهمی در تأمین غیرمســتقیم پروتئین حیوانی از طریق تأمین علوفه دام‌های پرورشـــی برعهده دارند. به‌طوری‌که حدود ۷۵ درصـــد از تولید جهانی ذرت به‌صـــورت علوفه در اختیار دام‌ها قرار می‌گیرد. همچنین ذرت از نظر تولید جهانی بعد از گندم و برنج در مقام سوم قرار دارد و از یک سو به‌دلیل دارا بودن مواد نشا سته‌ای در دانه و از سوی دیگر، مواد محلول و الیاف مناسب در علوفه آن یکی از بهترین گیاهان علوفه‌ای مورد استفاده در تغذیه دام محسوب می‌شود.

اخیراً علاوه‌بر نهاده‌های م صرفی و عوامل زراعی، ا ستفاده کارآمد از روش‌های هســـته‌ای برای افزایش عملکرد و بهبود کیفیت گیاهان زراعی و دارویی، کاربرد زیادی یافته است. مشخص شده است که این محرک‌های فیزیکی مانند پرتوتابی گاما با ایجاد تغییرات فیزیولوژیک و بیوشـیمیایی می‌توانند به‌طور مؤثری بر فرایندهای فتوسـنتز، تکثیر سـلولی، بهبود جوانه‌زنی، افزایش نرخ رشـد، افزایش مقاومت گیاه در برابر اسـترس و یا بهبود عملکرد گیاهان زراعی مؤثر باشـند (Nepal *et al.*, 2012). گزارش شده است که پرتو گاما در دزهای نسبتاً پایین (کمتر از ۱۰۰ گری) موجب بهبود سرعت جوانه‌زنی از طریق شکسته شـدن ملکول‌های کوچک به‌عنوان فعال‌کننده‌های ثانویه در درون بذر می‌شـــود و همچنین می‌تواند با فعال کردن برخی از ژن‌ها منجر به افزایش تکثیر سـلولی و در نتیجه، نرخ رشـد شـود (Smith, 2004). به‌عنوان م ثال، پرتو تابی بذر گ ندم در دز ۱۰۰ گری با عث افزایش فتو سنتز و میزان کلروفیل شده ا ست (Al-Masri and Zarkawi, 1994). همچنین پرتودهی بذر تریتیکاله با دز تابش بین ۲ تا ۳۰ گری باعث بهبود صـــفات عملکردی در مقایســـه با گیاه شـــاهد شـــد (Borzouei *et al.*, 2013). همچنین کاهش میزان لیگنین و بهبود محتو یات کربوه یدرات محلول و پروتئین گ یاه در پی پرتو تابی بذر غلات گزارش شده ا ست (García-Lara and Serna-Saldivar, 2002). از آن‌جا که بین محتوای کلروفیلی، کربوه یدارت محلول و پروتئین گیاه با خصـــوصـــیات هضـــمی رابطه مثبتی وجود دارد، لذا پرتوتابی می‌تواند منجر به بهبود کیفیت علوفه و یا سیلاژ حاصل از آن شود (Weiss and Hall, 2020). با توجه به اینکه مطالعات محدودی در مورد تأثیر پرتوتابی بذر گیاهان علوفه‌ای مورد ا ستفاده در تغذیه دام بر عملکرد و خ صو صیات تغذیه‌ای آن تاکنون انجام ن شده ا ست، این آزمایش به‌منظور بررســـی تأثیر پرتوتابی بذر با پرتو گاما بر عملکرد و کیفیت علوفه و سیلاژ ذرت علوفه‌ای به‌روش برون تنی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در پردیس ابوریحان دانشـــگاه تهران و پژوهشـــکده کشاورزی هسته‌ای پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای انجام شد. حدود دو کیلوگرم بذر ذرت علوفه‌ای (ســـینگل کراس ۷۰۴) پس از انجام آزمایشـــات جوانه‌زنی (داده‌های منتشـــر نشـــده) به‌منظور پرتوتابی به پژوهشـــکده کشـــاورزی هســـته‌ای منتقل و در دز بهینه ۲۵ گری با اسـتفاده از دسـتگاه گاما سـل کبالت-۶۰ با نرخ ۰/۵۵ گری در دقیقه پرتوتابی شد. سپس بذرهای پرتوتابی شده در زمینی به م ساحت دو هزار مترمربع در مزر عه قزلاق واقع در جنوب غربی شـــهرســـتان پاکد شت و در د شت ورامین ک شت شد. هدایت الکتریکی خاک ۵/۴ دسی زیمنس بر متر و مساحت هر کرت ۹۹ مترمربع (۸/۲۵ متر × ۱۲ متر) بود. آب‌یاری (هدا یت الکتریکی ۳/۹ دســـی زیمنس بر متر) با ا ستفاده از سیستم آبیاری قطره‌ای هر هفت روز در طول ف صل ر شد انجام شـد. در نیمی از زمین مورد نظر، بذور پرتوتابی شـده و در نیمی دیگر بذور پرتوتابی نشده ذرت کشت شد. نمونه‌برداری از گیاه ذرت در انتهای دوره ر شد انجام شد. مقدار پرولین از روش بیتس و با ا ستفاده از نین هیدرین، کربوهیدرات‌های محلول با ع صاره‌گیری و ا ستفاده از آنترون و پروتئین محلول با اســتفاده از روش براد فورد و با دســـتگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد (Alizadeh *et al.*, 2014). همچنین صـــفات عملکردی ذرت مانند وزن تر و خشـــک، وزن و تعداد دانه اندازه‌گیری شد.

پس از بردا شت، علوفه ذرت تو سط د ستگاه چاپر، خرد و به محل ذخیره ســیلو منتقل شــد. مقداری از علوفه هر دو تیمار در ســیلوهای آزمایشی از جنس لوله پلی اتیلن به‌مدت یک ماه سیلو شد. پس از این زمان، درب ســیلوها باز و نمونه‌ها با هم مخلوط شــد. برای آزمایشــات بعدی از سطوح بالایی، میانی و پایینی نمونه کافی بردا شته و مخلوط شـــد. مقدار ماده خشـــک با قرار دادن نمونه‌ها در دمای ۱۰۵ درجه ســانتی‌گراد، خاکســتر خام با قرار دادن نمونه‌ها در کوره الکتریکی در دمای ۵۰۰ درجه سـانتی‌گراد، پروتئین خام با اسـتفاده از روش کلدال (AOAC, 1990) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شـوینده اسـیدی (Van Soest *et al.*, 1991) اندازه‌گیری شـد. اندازه‌گیری pH سیلاژ با ا ستفاده از روش ع صاره‌گیری و تو سط pH متر (Corning UK) انجام شد (Verbic *et al.*, 1999).

جهت برآورد فراســـنجه‌های تولید گاز و به‌منظور تهیه مخلوطی یکنواخت، نمونه‌های گیاه کامل ذرت و ســـیلوهای آزمایشـــی پس از خشک کردن با استفاده از آسیاب با توری یک میلی‌متری آسیاب شد. ســپس مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه آســیاب شــده به مخلوط شــیرابه شکمبه- بزاق م صنوعی در ویال‌های ۵۰ سی سی ا ضافه و در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. قرائت حجم گاز تولیدی در زمان‌های

۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انجام شد. برای برازش فراسنجه‌های تولید گاز از رابطه ۱ استفاده شد (Menke et al., 1979). همچنین با استفاده از فرا سنجه‌های تولید گاز بەد ست آمده، میزان قابلیت ه ضم ماده آلی (رابطه ۲)، انرژی قابل متابولیسم (رابطه ۳)، انرژی خالص شیردهی (رابطه ۴) و میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (رابطه ۵) برآورد شد (Menke and Steingass, 1998).

$$G = b\,(1 - e^{-ct}) \quad \text{رابطه (۱)}$$

$$OMD\ (\%) = ۱۴/۸۸ + (۰/۸۸۹ \times GP_{۲۴}) + (۰/۴۵ \times CP) + (۰/۰۶۵۱ \times Ash) \quad \text{رابطه (۲)}$$

$$ME\ (MJ/kg\ DM) = ۲/۲ + ۰/۱۳۶\ GP_{۲۴} + ۰/۰۵۷\ CP + ۰/۰۰۲۹\ EE \quad \text{رابطه (۳)}$$

$$NE_L(MJ/kg\ DM) = (۰/۰۹۶ \times GP_{۲۴}) + (۰/۰۰۳۸ \times CP) + (۰/۰۰۱۷۳ \times EE) + ۰/۵۴ \quad \text{رابطه (۴)}$$

$$SCFA(mmol) = -۰/۰۰۴۲۵ + ۰/۰۲۲۲ \times GP_{۲۴} \quad \text{رابطه (۵)}$$

که در این روابط، $GP_{۲۴}$: حجم تولید گاز در ساعت ۲۴، ME: انرژی قابل متابولیسم، NE_L: انرژی خالص شیردهی، OMD: قابلیت هضم ماده آلی، CP: پروتئین خام؛ Ash: خاکستر، EE: عصاره اتری و SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر هستند.

داده‌های بەد ست آمده از آزمایش به صورت t-student با ا ستفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و تحلیل شد.

نتایج و بحث

تأثیر پرتوتابی بذر ذرت بر خصوصیات عملکردی گیاه ذرت در جدول ۱ آورده شده است. پرتوتابی بذر ذرت با پرتو گاما باعث افزایش عملکرد (وزن تر و خشک دانه و گیاه) و همچنین محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول و میزان پرولین شد ($P < ۰/۰۵$). مشابه نتایج این مطالعه پرتوتابی بذر ذرت با سطوح کمتر از ۱۰۰ گری باعث افزایش تعداد دانه و وزن دانه شد، به‌طوری‌که عملکرد ذرت حدود هشت درصد بعد از پرتوتابی افزایش نشان داد (Yadava et al., 2019). همچنین در سویا، پرتوتابی گاما باعث افزایش عملکرد دانه از ۲/۵ تن به ۴/۵ تن در هکتار شد (Pasangka, 2013). دلیل این افزایش عملکرد بعد از پرتوتابی با دزهای پایین اثرات تحریکی و همچنین بهبود شاخص‌های رشد گیاه گزارش شده است. سطوح پایین پرتو گاما منجر به تحریک رشد با افزایش در قابلیت آنتی اکسیدانتی سلولی و یا تغییر در شبکه تنظیمی هورمونی گیاه می‌شود. همچنین می‌تواند منجر به تحریک سنتز پروتئین و RNA شود (Borzouei et al., 2013). یافته‌های محققین نشان می‌دهد که پرتوتابی در دزهای پایین (تا ۲۰ گری) باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و ریشه‌دهی شده است، به‌طوری‌که طول ریشه را بین ۱۸ تا ۳۲ درصد افزایش داده است (Melki and Marouani, 2010). همچنین در مطالعه‌ای پرتوتابی با ۱۵ گری منجربه بهبود وزن خشک نخود در مقایسه با دز صفر شده است (Melki and Salami, 2008). جوانه‌زنی و رشد گیاه وابسته به تغذیه گیاه از مواد مغذی مانند پروتئین، اسیدهای آمینه، کربوهیدرات، ویتامین‌ها و مواد معدنی است. نشان داده شده است که پرتوتابی می‌تواند منجر به شکست بیشتر پیوندهای بین زنجیرها و ارتباطات عرضی مولکول های پیچیده پروتئین و کربوهیدرات در کمپلکس ترکیب آن‌ها و تولید پلیمرهای ساده‌تر شود (Mashev et al., 1995). همچنین مشابه نتایج مطالعه حاضر، مشخص شده است که پرتوتابی با دز پایین پرتو گاما می‌تواند باعث افزایش میزان اسیدآمینه پرولین شود که عامل مهمی در تحریک رشد جوانه‌زنی است. پرولین می‌تواند در زمان کمبود مواد مغذی و وجود استرس به پایداری پروتئین سلولی، تنظیم فشار اسمزی، حفظ آب سلولی، حذف اکسیژن‌های فعال محیط و حفظ pH سلول کمک کند. نقش پرولین در حفظ هموستاز سلولی از طریق حذف رادیکال های آزاد محیط باعث پایداری ساختار ها و عملکردهای مختلف سلولی مانند DNA، پروتئین و کربوهیدرات و همچنین حفظ عملکرد غشای سلول می‌شود که در نهایت، در کاهش فشار متابولیکی در گیاه و حفظ عملکرد آن بسیار مهم است (Falahati et al., 2007).

یکی دیگر از شاخص‌های مهم بیوشیمیایی سلول، میزان پروتئین آن است. مشابه نتایج این مطالعه در برخی تحقیقات افزایش میزان پروتئین سلولی پس از پرتوتابی گزارش شده است. در گندم پرتوتابی با پرتو گاما در دو واریته آن منجر به افزایش پروتئین محلول شده است (Borzouei et al., 2013). همچنین گزارش شده است که پرتوتابی با پرتو گاما در دزهای پایین می‌تواند باعث شکست اتصالات عرضی در درشت مولکول‌هایی مانند نشاسته و تولید پلیمرها و قندهای ساده‌تر شود که میزان کربوهیدرات‌های محلول را در گیاه و محصولات آن افزایش می‌دهد که این موضوع در تغذیه دام بسیار مهم است (Borzouei et al., 2013).

در عین حال، بسیاری از گزار شات ن شان می‌دهند که پرتوتابی با دزهای بالای پرتو گاما باعث کاهش عملکرد کیفی و کمّی گیاهان می‌شود. در گندم پرتوتابی با دزهای بالاتر از ۱۰۰ گری پرتو گاما، باعث کاهش معنی‌دار عملکرد دانه همزمان با کاهش درصد جوانه‌زنی و زنده‌مانی بذر و ارتفاع گیاه شده است (Mashev et al., 1995). همچنین در سورگوم، پرتوتابی با دزهای بالای پرتو گاما، باعث کاهش جوانه‌زنی و عملکرد رشد شده است، به‌طوری‌که پرتوتابی با دزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ گری در سورگوم منجر به کاهش ۱۶، ۱۹ و ۲۲ درصد در ارتفاع گیاه و کاهش ۱۸، ۲۲ و ۲۴ درصد در عملکرد وزن تر گیاه شده است (Wahyono et al., 2018). همچنین بیان شده است که میزان کربوهیدرات و کل پروتئین گیاه با پرتوتابی در دزهای بالا

به‌دلیل افزایش فعالیت های متابولیکی و آنزیم های هیدرولیزکننده کاهش می‌یابد (Maity *et al.*, 2009). دزهای بالای پرتوتابی باعث عوارض متابولیکی در بذر شده که منجر به مرگ سلولی و ناتوانی در جوا نه‌زنی می‌شود. همچنین در دز های بالای پرتو تابی، تخر یب کروموزومی و تغییرات ساختاری در DNA می‌تواند دلیل دیگر کاهش زنده‌مانی، جوانه‌زنی بذر و عملکرد آن باشد (Wahyono *et al.*, 2018).

جدول ۱– تأثیر پرتوتابی گاما بر خصوصیات عملکردی و ترکیب شیمیایی گیاه ذرت علوفه‌ای

Table 1- The effect of gamma irradiation on performance and chemical composition of forage corn

فراسنجه Parameter	شاهد Control	تیمار Treatment	SE[1]	مقدار P P value
تعداد بلال (در هر بوته) Number of ears (per plant)	0.77b	1.00a	0.05	0.0110
وزن تر گیاه (گرم در هر بوته) Fresh weight (g/plant)	546.7b	729.2a	26.5	0.0112
وزن خشک (گرم در هر بوته) Dry weight (g/plant)	225.2b	314.8a	11.3	0.0111
وزن دانه (گرم در هر بوته) Seed weight (g/plant)	24.44b	72.26a	3.43	0.01101
تعداد دانه (در هر بوته) Seed number (per plant)	3407b	5447a	17.6	0.0104
وزن هزار دانه (گرم در هر بوته) Weight of 1000 seeds (g/plant)	727b	1144a	7.28	0.0104
کربوهیدرات محلول (میلی گرم/گرم وزن تر) Soluble carbohydrate (mg/gfw)	449.6b	616.0a	21.54	0.0101
پروتئین محلول (میلی گرم/گرم وزن تر) Soluble protein (mg/gfw)	12.25b	14.43a	0.73	0.0410
پرولین (میکرومول بر گرم) Proline (μmol/g)	37.6b	52.4a	3.21	0.01

[1] SE: خطای استاندارد

– اعداد با حروف متفاوت در ردیف‌ها نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

- Means with different letters in a row differ ($P < 0.05$).

میزان تولید گاز در ساعت‌های مختلف انکوباسیون (جدول ۲) و فراسنجه‌های تخمیر (جدول ۳) گیاه ذرت پرتوتابی شده و پرتوتابی نشده نشان داده شده است. برر سی میزان تولید گاز و فرا سنجه‌های تخمیری در شرایط برون تنی بیانگر وسعت قابلیت هضم و تخمیر سوبسترای گیاه (Krizsan *et al.*, 2013) و تنوع در تولید گاز ناشی از تنوع در ترکیب شیمیایی سوبسترای مورد استفاده است (Fazaeli and Golmohammadi, 2012). در این مطالعه، همان‌طور که مشاهده می شود، میزان تولید گاز در تمام ساعت‌های انکوبا سیون در تیمار پرتوتابی شده بالاتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵؛ جدول ۲). همچنین ضرایب تولید گاز b و c و میزان تولید ا سیدهای چرب فرار، قابلیت هضم ماده آلی، محتوای انرژی قابل متابولیسم و انرژی خالص تیمار پرتوتابی شده بالاتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵؛ جدول ۳). مشابه با نتایج این مطالعه پرتوتابی بذر سورگوم منجر به افزایش کل تولید گاز در دزهای پایین شده است (Wahyono *et al.*, 2018). همچنین همبستگی مثبتی بین مقدار پروتئین خام و نرخ تولید گاز در گیاه یولاف و علوفه‌های مرتعی گزارش شده است (Wahyono, 2018). در آزمایش حاضر افزایش محتوای پروتئین و کربوهیدرات محلول در گیاه ذرت حاصل از بذر پرتوتابی شده می‌تواند یکی از دلایل افزایش تولید گاز به‌دلیل تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر توسط ریزجانداران باشد. زیرا بخش زیادی از گاز تولیدی به‌طور مستقیم از تولید اسیدهای چرب استات و بوتیرات و بخشی نیز به‌وا سطه بافر شدن ا سیدهای چرب فرار تولید می شود (Getachew *et al.*, 2004).

اگر چه در این آزمایش از دزهای بالاتر پرتو گاما استفاده نشد، امّا در مطالعه‌ای پرتوتابی بذر سورگوم با دز بالا (۲۰۰گری) میزان تولید گاز گیاه را در مقایسه با کاه آن کاهش داد (Wahyono *et al.*, 2018). همچنین در آزمایش این محققین میزان تولید متان به‌عنوان مهم‌ترین گاز تخمیر محیط انکوباسیون پس از پرتوتابی با دزهای ۲۰۰ و ۳۰۰ گری پرتو گاما به‌ترتیب ۱۹ و ۱۵ درصد کاهش داشت که دلیل آن کاهش میزان کربوهیدرات و کل پروتئین گیاه به‌دلیل افزایش

فعالیت‌های متابولیکی و آنزیم‌های هیدرولیزکننده پس از پرتوتابی با دزهای بالا گزارش شده است.

جدول ۲– تأثیر پرتوتابی بر مقدار گاز تولیدی گیاه ذرت در ساعت‌های مختلف انکوباسیون (میلی‌لیتر)

Table 2- The effect of gamma irradiation on gas production of corn forage at different time of incubation (ml/200 g DM)

ساعت انکوباسیون Incubation time	شاهد Control	تیمار Treatment	SE[1]	مقدار P P value
2	10.4b	12.2a	0.4	0.0101
4	17.6b	19.6a	0.61	0.0200
6	23.9b	26.0a	0.87	0.0114
8	29.6b	31.9a	0.91	0.0501
12	37.2b	41.4a	1.0	0.0104
24	44.9b	51.5a	1.3	0.0114
36	55.7b	62.3a	1.4	0.0154
48	69.7b	76.3a	1.5	0.0110
72	77.1b	84.9a	1.7	0.0141
96	81.2b	88.7a	1.7	0.0101

۱ SE: خطای استاندارد

– اعداد با حروف متفاوت در ردیف‌ها نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

- Means with different letters in a row differ (P < 0.05)

جدول ۳– تأثیر پرتوتابی بر ضرایب و فراسنجه‌های تولید گاز گیاه ذرت علوفه‌ای

Table 3- The effect of gamma irradiation on gas production parameters of forage corn

فراسنجه Parameter	شاهد Control	تیمار Treatment	SE[1]	مقدار P P value
قابلیت تولید گاز (b؛ میلی‌لیتر) Potential of gas production (b; ml)	79.5b	86.5a	1.7	0.0101
نرخ تولید گاز (c؛ میلی‌لیتر بر ساعت) Rate of gas production (c; ml/h)	0.053	0.057	0.01	0.0610
اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول بر لیتر) SCFA (mmol/l)	1.23b	1.39a	0.03	0.0101
قابلیت هضم ماده آلی (درصد) OM digestibility (%)	69.5b	76.2a	1.3	0.0110
انرژی متابولیسمی (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک) ME (Mj/kg DM)	10.41b	11.42a	0.20	0.0195
انرژی خالص شیردهی (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک) NEL (Mj/kg DM)	5.34b	6.05a	0.10	0.0104

۱ SE : خطای استاندارد

– اعداد با حروف متفاوت در ردیف‌ها نشان‌دهنده ختلاف آماری معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

- Means with different letters in a row differ (P < 0.05)

ترکیب و خصوصیات شیمیایی سیلاژ ذرت حاصل از بذور پرتوتابی شده و شاهد در جدول ۴ گزارش شده است. ترکیبات شیمیایی سیلاژ ذرت در محدوده میانگین ترکیبات شیمیایی گزارش شده برای سیلاژ ذرت بود (McDonald *et al.*, 1991). درصد ماده خشک، پروتئین و چربی خام تیمار پرتوتابی شده بیشتر و میزان pH سیلاژ آن کمتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). افزایش در درصد پروتئین سیلاژ و نیز کاهش میزان pH آن می‌توانند به‌دلیل افزایش مواد مغذی محلول (جدول ۲) گیاه ذرت پرتوتابی شده در زمان سیلو کردن و در نتیجه، افزایش جمعیت باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک و بهبود تخمیر باشد. مشابه با نتایج این آزمایش، در مطالعه‌ای بر روی سیلاژ سورگوم کاهش در pH محیط تخمیری پس از پرتوتابی بذور آن گزارش شده است (Wahyono, 2018). این محققین نیز کاهش در میزان pH را ناشی از نوع کربوهیدرات در سترس و نیز میزان بالای کربوهیدرات محلول در محیط گزارش کرده‌اند. اگر چه مقدار pH در هر دو سیلاژ در محدوده مناسب گزارش شده برای سیلاژ ذرت قرار داشت (McDonald *et al.*, 1991)، با این حال سیلاژ ذرت حاصل بذر پرتوتابی شده pH پایین‌تری داشت. دلیل این موضوع را می‌توان به بیشتر بودن مقدار کربوهیدرات محلول در علوفه ذرت حاصل از بذر پرتوتابی شده قبل از سیلو کردن نسبت داد (جدول ۱). کربوهیدرات‌های محلول عمده ترکیباتی هستند که توسط باکتری‌ها

به اسیدهای آلی (عمدتاً اسید لاکتیک) تخمیر شده و با کاهش pH و اسیدی کردن محیط باعث حفظ کیفیت سیلاژ و جلوگیری از تجزیه پروتئین به آمونیاک می‌شوند (Getachew *et al*., 2004). دلیل بالاتر بودن پروتئین خام در سیلاژ ذرت حاصل از بذر پرتوتابی شده را می‌توان به همین موضوع نسبت داد.

جدول ٤– آنالیز تقریبی و pH سیلاژ ذرت آزمایشی

Table 4- Chemical composition of experimental corn silage

فراسنجه Parameter	شاهد Control	تیمار Treatment	SE[1]	مقدار P P value
ماده خشک (٪) Dry matter (%)	26.1b	29.4a	0.09	0.0030
خاکستر (٪) Ash (%)	7.19	7.46	0.4	0.6501
پروتئین خام (٪) Crude protein (%)	11.2b	13.3a	0.18	0.0210
فیبر نامحلول در شوینده خنثی (٪) Nuetral Detergent Fiber (%)	29.9	26.9	2.2	0.0710
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (٪) Acid Detergent Fiber (%)	18.1	16.5	1.8	0.1210
pH	4.1a	3.8b	0.02	0.0114

[1] SE: خطای استاندارد

– اعداد با حروف متفاوت در ردیف‌ها نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

- Means with different letters in a row differ ($P < 0.05$).

میزان تولید گاز (جدول ۵) و فراسنجه‌های تخمیر (جدول ۶) سیلاژ نشان داده شده است. مشابه روند مشاهده شده در گیاه ذرت، مقادیر تولید گاز در ساعت‌های مختلف انکوباسیون و نیز مقدار فراسنجه‌های تخمیری آن برای سیلاژ ذرت حاصل از بذور پرتوتابی شده بالاتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). بهبود در مقدار فراسنجه‌های تولید گاز سیلاژ می‌تواند به‌دلیل فراهمی بیشتر مواد مغذی به‌ویژه پروتئین و کربوهیدرات محلول در محیط انکوباسیون باشد (جدول ۴). در همین رابطه همبستگی مثبتی بین میزان پروتئین خام و نرخ تولید گاز در یولاف و علوفه‌های مرتعی گزارش شده است، به‌طوری‌که افزایش میزان پروتئین خام باعث افزایش تولید گاز ۹۶ ساعت و فراسنجه‌های تولید گاز شده است (Kulivand and Kafilzadeh, 2015).

مشابه نتایج این مطالعه، در آزمایشات دیگر نیز افزایش در میزان فرآورده‌های تخمیری برای تیمارهای پرتوتابی شده گزارش شده است. افزایش میزان اسیدهای چرب فرار در سیلاژ سورگوم حاصل از پرتوتابی بذر با پرتو گاما مشاهده شده است (Wahyono *et al*., 2018). افزایش در میزان فرآورده‌های تخمیری همبستگی بالایی با میزان و نرخ تولید گاز به‌عنوان شاخصی از تخمیر دارد. اسیدهای چرب فرار محصولات نهایی تخمیر کربوهیدات‌ها هستند، لذا هرچه میزان کربوهیدرات در محیط بیشتر باشد، میزان تخمیر و فرآورده‌های آن شامل اسیدهای چرب فرار افزایش می‌یابد (Yadava *et al*., 2019). همچنین در دانه ارزن نشان داده شده است که پرتوتابی می‌تواند قابلیت هضم پروتئین دانه و در نتیجه، فراهمی پروتئین محلول برای محیط تخمیر را افزایش دهد. محققین دلیل افزایش قابلیت هضم پروتئین را حذف عوامل ضد تغذیه‌ای متصل با پروتئین و یا تجزیه اتصالات عرضی کمپلکس‌های پروتئین و افزایش عمل آنزیم‌های پروتئولیتیک پس از پرتوتابی اعلام کرده‌اند (Shazali *et al*., 2016). این افزایش در مقدار پروتئین محلول نیز می‌تواند از دلایل افزایش میزان تولید گاز و تولید فرآورده‌های تخمیر باشد.

در این مطالعه، میزان NDF و ADF سیلاژ پرتوتابی شده کمتر از سیلاژ شاهد بود، هرچندکه تفاوت آن معنی‌دار نبود. در همین رابطه، برخی مطالعات نشان می‌دهند که پرتوتابی گاما می‌تواند باعث کاهش محتویات دیواره سلولی در غلات و علوفه‌ها شود (Yadava *et al*., 2019). از طرف دیگر، نشان داده شده است که همبستگی منفی نسبتاً قوی (r = −۰/۸۱) بین کنتیک تولید گاز و میزان لیگنین و NDF خوراک وجود دارد (He, 2018). لذا احتمالاً بهبود در مقدار و فراسنجه های تولید گاز تیمار پرتوتابی شده، علاوه‌بر فراهمی کربوهیدارت و پروتئین محلول به‌عنوان سوبسترا برای ریزجانداران محیط تخمیری (جدول ۱ و ۴)، می‌تواند ناشی از بهبود قابلیت هضم اجزای فیبر گیاه و سیلاژ ذرت بعد از پرتوتابی باشد.

جدول ۵– مقدار تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون (میلی‌لیتر به‌ازای ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک) سیلاژ ذرت

Table 5- The effect of gamma irradiation on gas production parameters of corn silage (ml/200 mg DM)

ساعت انکوباسیون Incubation time	شاهد Control	تیمار Treatment	SE[1]	مقدار P P value
2	10.05	7.35	0.91	0.0701
4	13.7b	21.5a	1.8	0.0100
6	18.6b	26.9a	2.3	0.0304
8	26.6b	40.04a	3.05	0.0110
12	35.4b	52.6a	3.77	0.0114
24	54.0b	75.3a	5.6	0.0247
36	63.2b	87.2a	5.5	0.0142
48	85.2	93.9	12.6	0.5245
72	86.7b	98.6a	8.12	0.0304
96	101.0	104.2	9.3	0.3647

۱ SE: خطای استاندارد

– اعداد با حروف متفاوت در ردیف‌ها نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

- Means with different letters in a row differ (P < 0.05).

جدول ٦– فراسنجه‌های آزمون تولید گاز، ضرایب قابلیت هضم، انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر سیلاژ ذرت

Table 6- The effect of gamma irradiation on gas production parameters of corn silage

فراسنجه Parameter	شاهد Control	تیمار Treatment	SE[1]	مقدار P P value
قابلیت تولید گاز (b؛ میلی‌لیتر) Potential of gas production (b; ml)	65.7b	76.7a	7.5	0.0202
نرخ تولید گاز (c؛ میلی‌لیتر بر ساعت) Rate of gas production (c; ml/h)	0.04	0.05	0.01	0.1211
اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول بر لیتر) SCFA (mmol/l)	0.56b	0.79a	0.05	0.0374
قابلیت هضم ماده آلی (درصد) OM digestibility (%)	67.7b	86.6a	4.9	0.0374
انرژی متابولیسمی (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک) ME (mj/kg DM)	7.5b	8.4a	0.7	0.0035
انرژی خالص شیردهی(مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک) NEL (mj/kg DM)	4.6b	5.5a	0.10	0.0241

۱ SE: خطای استاندارد

– اعداد با حروف متفاوت در ردیف‌ها نشان دهنده ی خلاف آماری معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

- Means with different letters in a row differ (P < 0.05).

نتیجه‌گیری کلی

بر ا ساس نتایج این پژوهش، پرتوتابی بذر ذرت علوفه‌ای با دز ۲۵ گری باعث افزایش عملکرد دانه و علوفه در واحد ســطح و همچنین میزان پرولین، کربوهیدرات و پروتئین محلول شــد. ارزش غذایی و قابلیت تخمیر علوفه و ســیلاژ ذرت پس از پرتوتابی با پرتو گاما بهبود یافت. همچنین pH ســیلاژ ذرت حاصــل از پرتوتابی بذر با پرتو گاما نسبت به سیلاژ شاهد کمتر بود. به نظر می‌رسد که استفاده از پرتوگاما در دزهای پایین می‌تواند باعث بهبود کیفیت و ارزش غذایی ســیلاژ ذرت علوفه‌ای در تغذیه دام شود.

References

1. Alizadeh, A., Dianati, G., & Naseryan Khyabani, B. (2014). Effect of seed irradiation with gamma ray on some physiological properties and biochemical parameters of plants in two species of *Bromus inermis* and *B. tomentellus*. *Marta*, *8*(2), 137-147.
2. Al-Masri, M. R., & Zarkawi, M. (1994). Effects of gamma irradiation on chemical compositions of some agricultural residues. *Radiation Physics and Chemistry*, *43*, 257-260. DOI: https://doi.org/10.1016/0969-806X(94)90188-0.
3. AOAC, International. (1990). Official Methods of Analysis. (15th ed.) AOAC International, Arlington, VA.
4. Borzouei, A., Kafi, M., Sayahi, R., Rabiei, E., & Amin, P. S. (2013). Biochemical response of two wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) to gamma radiation. *Pakistan Journal of Botany*, *45*(2), 473-477.

5. Falahati, A., Kazemitabar, S. K., Bahrami, A. R., Lahouti, M., & Rahimi, M. F. (2007). The study of gamma irradiation effects on drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Indian Journal of Crop Science*, *2*(1), 155-158.
6. Fazaeli, H. H. A., & Golmohammadi, H. A. (2012). Productivity and nutritive value of barley green fodder yield in hydroponic system. *World Applied Science Journal*, *16*, 531-539.
7. García-Lara, S., & Serna-Saldivar, S. O. (2002). Corn history and culture. *Corn, Elsevier*, 1-18. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00001-2
8. Getachew, G., DePeters, E. J., & Robinson, P. H. (2004). *In vitro* gas production provides effective method for assessing ruminant feeds. *California Agriculture*, *58*(1), 54-58.
9. He, Y. (2018). Lignin composition is more important than content for maize stem cell wall degradation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *98*, 384-390.
10. Krizsan, S. J., Jančík, F., Ramin, M., & Huhtanen, P. (2013). Comparison of some aspects of the in situ and *in vitro* methods in evaluation of neutral detergent fiber digestion. *Journal of Animal Science*, *91*, 838-847. DOI: https://doi.org/10.2527/jas.2012-5343
11. Kulivand, M., & Kafilzadeh, F. (2015). Correlation between chemical composition, kinetics of fermentation and methane production of eight pasture grasses. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, *37*(1), 9-14.
12. Maity, S., Chakraborty, S., Subrata, P., Jiin-Shuh, A., & Anindita, C. (2009). Effects of gamma irradiation on edible seed protein, amino acids and genomic DNA during sterilization. *Food Chemistry*, *114*, 1237-1244. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.001
13. Mashev, N., Vassilev, G., & Ivanov, K. (1995). A study of N-allyl N-2 pyridyl thiourea and gamma radiation treatment on growth and quality of peas and wheat. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, *21*, 56-63.
14. McDonald, P., Henderson, A. R., & Heron, S. J. E. (1991). The biochemistry of silage. 2nd ed. Chalcombe Pub., Marlow. 340 p.
15. Melki, M., & Salami, D. (2008). Studies the effects of low dose of gamma rays on the behavior of chickpea under various conditions. *Pakistan Journal of Biological Science*, *11*(1), 2326–2330. DOI: https://doi.org/10.1007/s10311-009-0222-1.
16. Melki, M., & Marouani, A. (2010). Effects of gamma rays irradiation on seed germination and growth of hard wheat. *Environmental Chemistry Letter*, *8*(4), 307–310.
17. Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., & Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. *The Journal of Agricultural Science*, *93*, 217-222. DOI: https://doi.org/10.1017/S0021859600086305
18. Menke, K. H., & Steingass, Y. H. (1998). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Developments*, *28*, 7-55.
19. Nepal, S., Ojha, B. R., Meador, A. S., & Gaire, S. P. (2014). Effect of gamma rays on germination and photosynthetic pigments of maize (*Zea mays* L.) inbreds. *International Journal of Research*, *1*(5), 511-525.
20. Pasangka, B. (2013). The application of multigamma radiation as a physical mutagen for breeding of local soybean. *Journal of Agricultural and Biological Science*, *8*(5), 450-456.
21. Shazali, A. M., Nahid, A. A., Salma, H. A., & Elfadil, E. B. (2016). Effect of radiation process on antinutrients, protein digestibility and sensory quality of pearl millet flour during processing and storage. *International Food Research Journal*, *18*(4), 1401-1407.
22. Smith, C.W. (2004). Corn: origin, history, technology, and production, John Wiley & Sons.
23. Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A., (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in ration to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, *74*, 3583-3597. DOI: https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2
24. Verbic, J., Ørskov, E. R., Žgajnar, J., & Chen, X. B. (1999). The effect of method of forage preservation on the protein synthesis in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*, *82*, 195-212. DOI: https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00102-9
25. Weiss, W. P., & Hall, M. B. (2020). Laboratory methods for evaluating forage quality. *Forages: The Science of Grassland Agriculture*, *2*, 659-672. DOI: https://doi.org/10.1002/9781119436669.ch36
26. Wahyono, T., Hardani, S. N. W., Sugoro, I., & Peternakan, B. (2018). Low irradiation dose for sorghum seed sterilization: Hydroponic fodder system and *In vitro* study. *Buletin Peternakan*, *42*(3), 215-221.
27. Wahyono, T. (2018). Evaluasi fermentabilitas ransum kerbau yang mengandung sorgum dengan pendekatan In Sacco, *In vitro* dan RUSITEC. Thesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
28. Wang, M., Wang, R., & Janssen, P. H. (2016). Sampling procedure for the measurement of dissolved hydrogen and volatile fatty acids in the rumen of dairy cows. *Journal of Animal Science*, *94*, 1159-1169. DOI: https://doi.org/10.2527/jas.2015-9658
29. Yadava, A., Singh, B., & Singh, S. D. (2019). Impact of gamma irradiation on growth, yield and physiological attributes of maize. *Indian journal of experimental biology*, *57*, 116-122.